

Medicina personalizada de precisión en fibroblastos derivados de una paciente con neuropatía hipomielinizante congénita tipo 3

Romero-González, Ana (1), Reche-López, Diana (1), Molina-Gómez, Pedro(1) & Sánchez-Alcázar, José Antonio (1)

(1) Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular- Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD- CSIC- Universidad Pablo de Olavide)

INTRODUCCIÓN

La neuropatía hipomielinizante congénita tipo 3 (CHN3) es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por hipomielinización axonal. El marco fisiopatológico está definido por mutaciones en el gen *CNTNAP1*, que codifica la proteína asociada a contactina 1 (Caspr1). Entre las funciones descritas de Caspr1 se incluyen servir como anclaje en la membrana de mielina dentro del complejo de contactina y regular el neurodesarrollo a través de la vía Notch. Recientemente, se ha descrito su papel en la dirección del tráfico vesicular exocítico y su interacción con ATG4B para modular la autofagia celular. A pesar de haberse identificado distintas variantes patogénicas, los mecanismos moleculares específicos alterados siguen sin estar claros y actualmente no existe ningún tratamiento disponible para los pacientes.

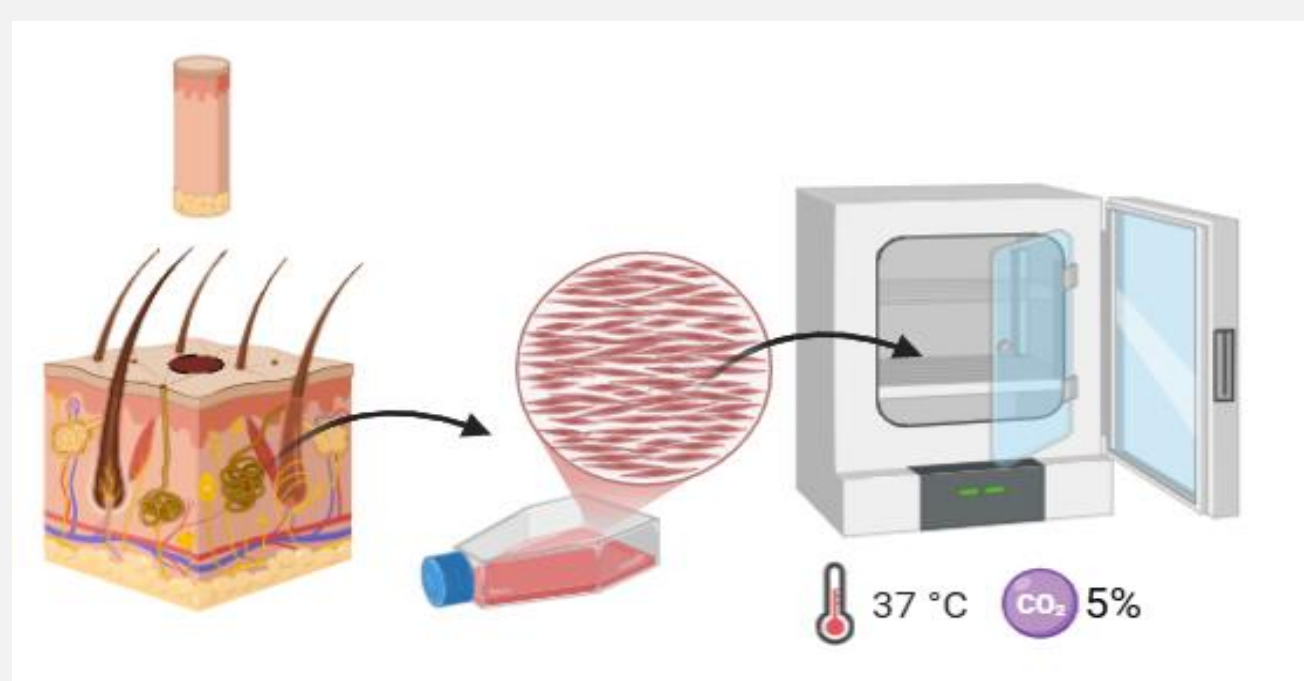
OBJETIVOS

- 1) Caracterizar los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad en modelos de fibroblastos dérmicos humanos derivados de una paciente con CHN3.
- 2) Realizar un cribado de fármacos con compuestos aprobados por la FDA/EMA para rescatar la fisiopatología observada en el modelo celular.
- 3) Realizar la reprogramación neuronal directa de fibroblastos derivados de la paciente y validar los compuestos positivos identificados previamente en las neuronas reprogramadas.

METODOLOGÍA

Los fibroblastos dérmicos derivados de la paciente se obtuvieron mediante una biopsia de piel y posteriormente se cultivaron e incubaron en condiciones de 37 °C y 5% de CO₂.

- P1-c.169+1G>T – *splicing*
- P1-c.2143T>C (p.Cys715Arg) – *missense*



PERSPECTIVAS FUTURAS

- ✓ Elucidar el mecanismo de acción de los compuestos líderes.
- ✓ Realizar ensayos de complementación funcional y silenciamiento mediante siRNA para confirmar si la mutación en *CNTNAP1* es la única responsable de la fisiopatología observada.
- ✓ Optimizar la reprogramación neuronal directa de fibroblastos dérmicos para garantizar la reproducibilidad y consistencia de los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

- Sell, L. B., Garcia, D., Holla, A., Chilton, I., DeVries, S., Gomez-Moreno, A. M., Lubian-Gutierrez, M., Shi, Q., & Bhat, M. A. (2026). Human CNTNAP1 Variants Associated With Severe Neurological Deficits: Additional Cases and Literature Review. *Muscle Nerve*, 73(4), 517–526. <https://doi.org/10.1002/mus.70160>.
- Rios, J. C., Melendez-Vasquez, C. V., Einheber, S., Lustig, M., Grumet, M., Hemperly, J., Peles, E., & Salzer, J. L. (2000). Contactin-associated protein (Caspr) and contactin form a complex that is targeted to the paranodal junctions during myelination. *J Neurosci*, 20(22), 8354–8364. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-22-08354.2000>.
- Zou, Y., Zhang, X., Chen, X. Y., Ma, X. F., Feng, X. Y., Sun, Y., Ma, T., Ma, Q. H., Zhao, X. D., & Xu, D. E. (2025). Contactin -Associated protein1 Regulates Autophagy by Modulating the PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway and ATG4B Levels in Vitro and in Vivo. *Mol Neurobiol*, 62(3), 2764–2780. <https://doi.org/10.1007/s12035-024-04425-9>.

RESULTADOS PRELIMINARES

1. Colocalización de Caspr1 con el complejo de Golgi y alteraciones de la vía exocítica autofágica en fibroblastos CHN3.

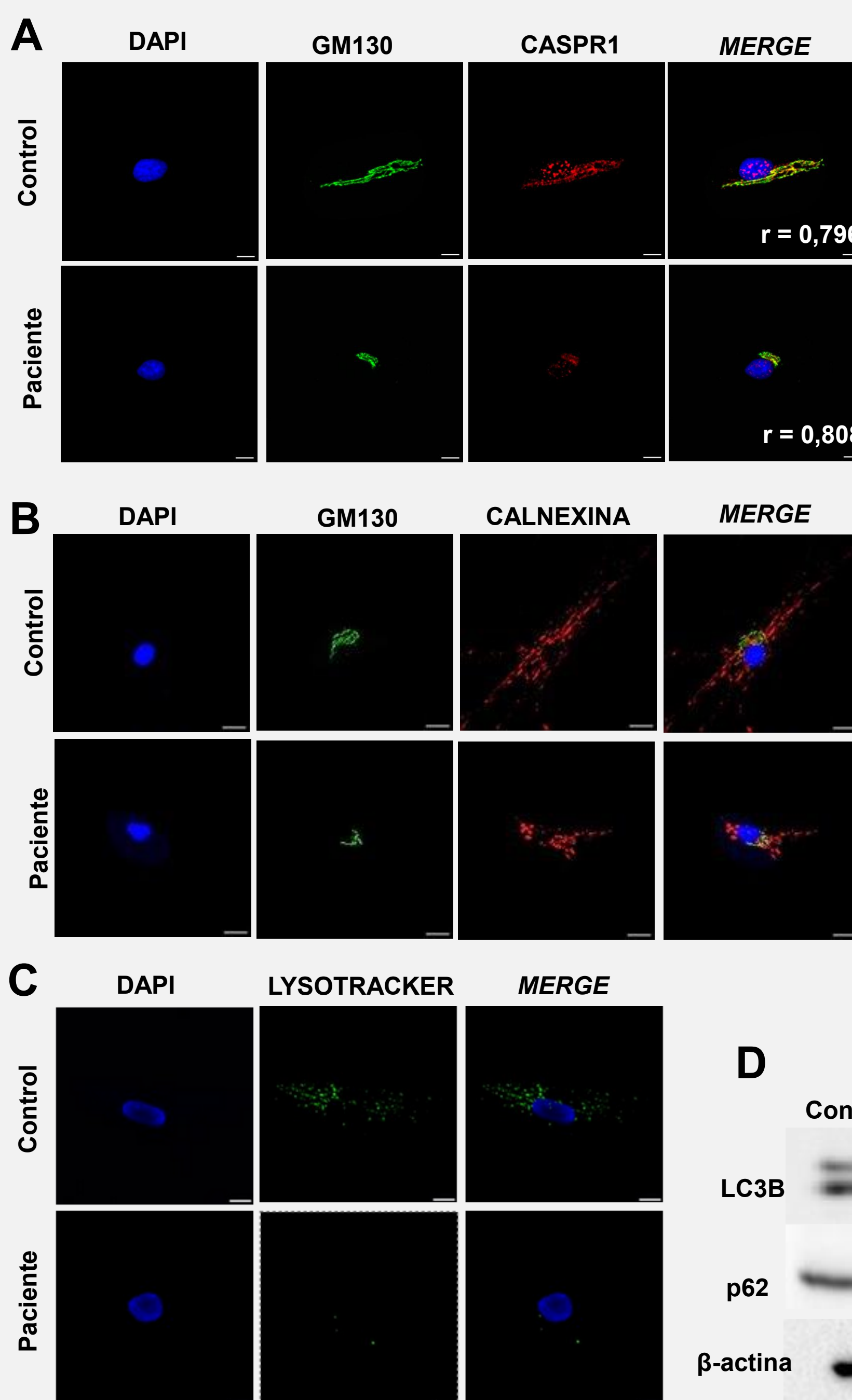


Figura 1. Retención de Caspr1 en Golgi y alteración de la integridad de los orgánulos y la autofagia en fibroblastos CHN3. (A) Imágenes de inmunofluorescencia representativas de Caspr1 y GM130, marcador del Golgi, en los fibroblastos control y los fibroblastos derivados de la paciente CHN3. Los núcleos se tiñeron con 1 µg/mL de DAPI. Barra de escala: 20 µm. Para cuantificar la colocalización de Caspr1 y GM130, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson, considerando una correlación positiva con un coeficiente superior a 0,75. (B) Imágenes representativas de fluorescencia de Caspr1 y calnexina, marcador del RE, en los fibroblastos control y los fibroblastos derivados de la paciente CHN3. Los núcleos se tiñeron con 1 µg/mL de DAPI. Barra de escala: 20 µm. (C) Imágenes de fluorescencia representativas de los compartimentos ácidos en fibroblastos control y CHN3 incubados con la sonda LysoTrackerTM 75 nM durante una hora. Los núcleos se tiñeron con 1 µg/mL de DAPI. Barra de escala: 20 µm. (D) Análisis de inmunotransferencia de los extractos de las células control 1 y 2 y fibroblastos derivados de la paciente. Los extractos de proteínas (20 µg) se separaron en un gel de poliácridamida SDS y se incubaron con anticuerpos contra LC3B y p62. La actina se utilizó como control de carga.

2. Peroxidación lipídica y acumulación de hierro en los fibroblastos CHN3

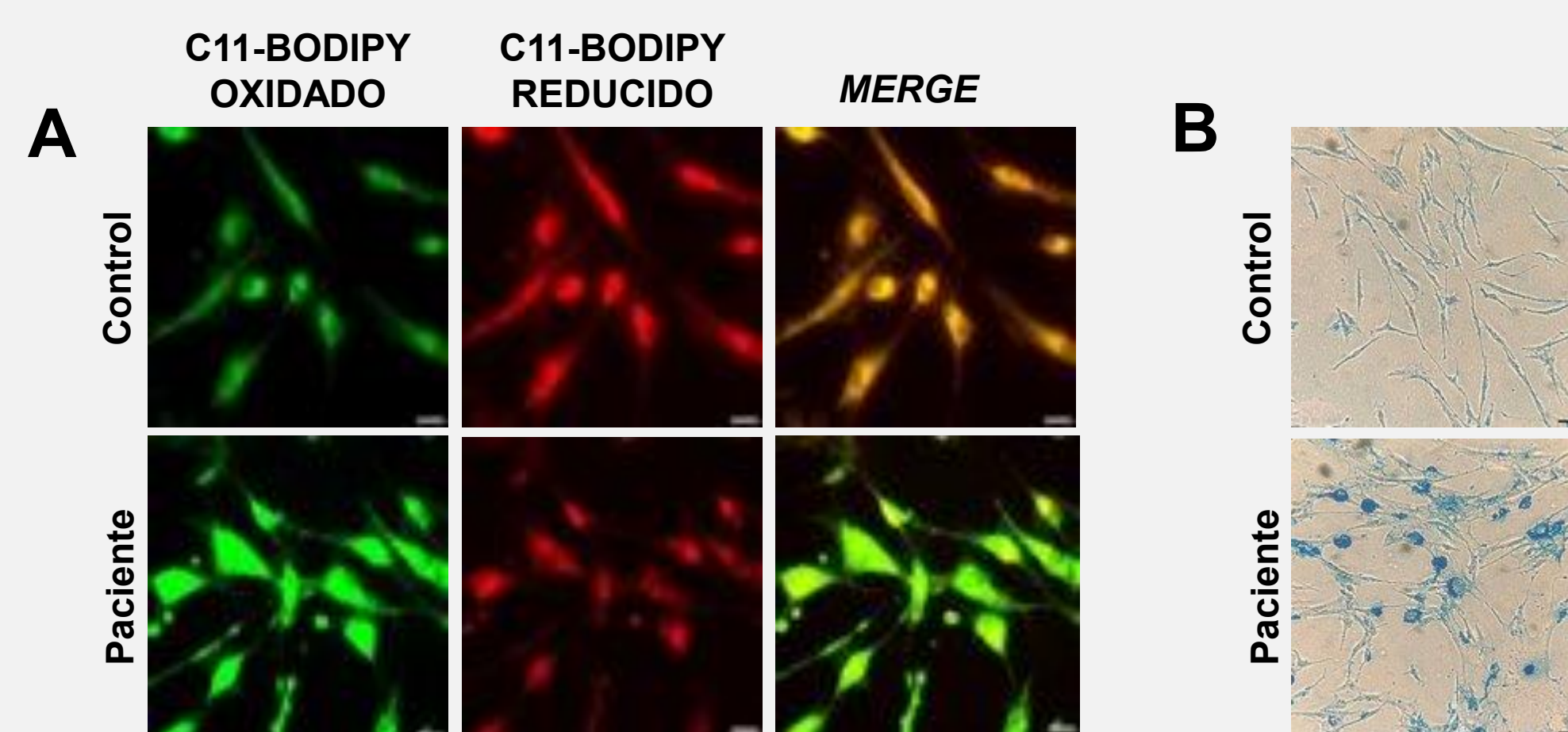


Figure 2. Membrane Oxidative Damage and Intracellular Iron Overload in CHN3 Fibroblasts. (A) Imágenes representativas de la fluorescencia emitida por el sensor BODIPY® 581/591 C11 oxidado y BODIPY® 581/591 C11 reducido en fibroblastos control y CHN3. Escala: 20 µm (B) Imágenes representativas de la tinción de azul de Prusia para la detección de hierro intracelular en fibroblastos control y CHN3. Escala: 20 µm.

CONCLUSIONES

